

NGHIÊN CỨU QUY TRÌNH TẠO ĐỒ UỐNG TỪ DỊCH CHIẾT CÂY TÍA TÔ (*Perilla frutescens* L. Britton)

Nguyễn Thị Thu Hà, Phan Duệ Thanh, Tống Thị Mơ và Trần Thị Thúy*

Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội

Tóm tắt. Tía tô (*Perilla frutescens* L. Britton) được biết đến là loại rau gia vị và cũng là loại thảo dược chứa tinh dầu phổ biến ở Việt Nam và một số nước Đông Á. Nước tía tô là sản phẩm đồ uống ưa thích ở Nhật Bản và một số nước châu Á. Ở Việt Nam, chưa có sản phẩm nước uống từ tía tô sản xuất trong nước. Trong bài báo này, chúng tôi đã nghiên cứu một số thông số kỹ thuật, an toàn thực phẩm để xây dựng được quy trình tạo đồ uống từ dịch chiết cây tía tô nhằm tạo sản phẩm đồ uống đáp ứng yêu cầu chất lượng và an toàn thực phẩm: Tỷ lệ phối hợp gồm 1 tía tô : 3 nước (kg/L), bổ sung 15% đường kính trắng và 0,3% acid citric là phù hợp tạo nước uống từ dịch chiết tía tô có điểm cảm quan đạt $18,5 \pm 0,05$. Hàm lượng các hợp chất phenol tổng số, flavonoid, đường khử trong dịch chiết tía tô đạt lần lượt $5,817 \pm 0,172$; $5,443 \pm 0,016$; $1,994 \pm 0,003$ (mg/mL); cao hơn không đáng kể so với nước uống chế biến từ dịch chiết tía tô ($4,737 \pm 0,0135$; $4,750 \pm 0,0235$; $1,963 \pm 0,014$ (mg/mL). Hàm lượng anthocyanin trong cây tía tô là $0,6011 \pm 0,002$ (mg/g) và không xác định được trong dịch chiết và nước uống từ dịch chiết tía tô. Hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết và nước uống tía tô (theo phương pháp quét gốc DPPH) lần lượt đạt giá trị IC₅₀ ở 105,46 và 103,92 mg/mL. Kết quả đánh giá tổng số vi sinh vật hiếu khí và coliform cho thấy sản phẩm nước uống từ dịch chiết tía tô thanh/khử trùng đáp ứng yêu cầu an toàn thực phẩm sau 25 ngày bảo quản ở 4 - 30°C.

Từ khóa: cây tía tô, nước uống tía tô, hợp chất phenol, flavonoid, anthocyanin.

1. Mở đầu

Tía tô (*Perilla frutescens* L. Britton) là loại cây gia vị và cũng là loại thảo dược, chứa tinh dầu có mùi đặc trưng, thuộc họ Hoa môi và có nguồn gốc ở vùng núi Himalaya, Đông Á và vùng Đông Nam Á [1]. Trong đông y tía tô vị cay, tính ôn và có nhiều tác dụng chữa phong hàn, hóa đờm, giải độc, an thai, cảm mạo, đau bụng... [2]. Người Nhật Bản dùng sản phẩm nước tía tô như loại nước uống giải khát vào mùa hè; dùng dịch chiết tía tô để làm sáng da tự nhiên, giúp loại bỏ các tế bào chết trên da một cách hiệu quả. Quy trình sản xuất siro nước tía tô đã được Baba, Ishikawa và Takei công bố sở hữu trí tuệ tại châu Âu năm 2008 và tại Mỹ năm 2012 [3, 4]. Các công trình nghiên cứu lên men dịch chiết tía tô phối hợp với một số dịch chiết hoa quả đã được nhóm nghiên cứu của Ren và cộng sự công bố tại Trung Quốc năm 2009 và 2010 [5, 6].

Việt Nam là nước có khí hậu nhiệt đới gió mùa thuận lợi cho cây tía tô phát triển. Do đó, nguồn nguyên liệu này luôn luôn dồi dào, đáp ứng mọi nhu cầu sử dụng trực tiếp hoặc tạo các sản phẩm từ cây tía tô. Tuy nhiên, ở Việt Nam hiện nay hầu hết mọi người mới biết đến và sử dụng

Ngày nhận bài: 13/9/2021. Ngày sửa bài: 22/10/2021. Ngày nhận đăng: 29/10/2021.

Tác giả liên hệ: Trần Thị Thúy. Địa chỉ e-mail: thuy_tt@hnue.edu.vn

tía tô như một trong các các loại rau gia vị; việc thu hoạch tía tô tươi theo mùa vụ và quy trình bảo quản còn kém [7]. Trong 20 năm trở lại đây, tại Việt Nam đã có nghiên cứu về cây tía tô tập trung vào đánh giá thành phần hóa học, tách chiết tinh dầu từ các bộ phận của cây [2, 7]. Một số nghiên cứu chế biến dịch chiết tía tô ứng dụng trong sản xuất đồ uống, sản xuất thực phẩm chức năng đã được thực hiện, nhưng chưa được phổ biến rộng rãi [8-10].

Với mong muốn góp phần nâng cao giá trị sản phẩm và đa dạng hóa các sản phẩm đồ uống từ rau, củ quả, chúng tôi tiến hành nghiên cứu xây dựng quy trình chế tạo nước uống từ dịch chiết tía tô nhằm tạo sản phẩm đồ uống chất lượng, đáp ứng các tiêu chí về an toàn thực phẩm.

2. Nội dung nghiên cứu

2.1. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1.1. Vật liệu, hóa chất và môi trường nuôi cấy vi sinh vật

Cây tía tô (*Perilla frutescens* L. Britton) được thu mua từ các chợ đầu mối ở Hà Nội; được loại bỏ rễ, thân và lá già, loại bỏ các phần bị dập nát và sâu bệnh; được rửa sạch với nước và để ráo trước khi chế biến.

Các hóa chất phân tích được nhập từ công ty Merck (Đức) đều có độ tinh sạch ở mức phân tích.

Môi trường MPA có thành phần (g/L) gồm: cao thịt 5; NaCl 5; peptone 5; thạch 20.

Môi trường Hansen có thành phần (g/L) gồm: glucose 50; peptone 10; KH_2PO_4 3; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2; thạch 20.

Môi trường PCA có thành phần (g/L) gồm: peptone 5; cao nấm men 2,5; glucose 1; thạch 15.

Môi trường dùng để định lượng Coliform tổng số và Coliform chịu nhiệt trong nước uống từ dịch chiết tía tô có thành phần (g/L) gồm: peptone 2,5; cao thịt 1,5; Lactose 5; NaCl 2,5; Phenol đỏ 0,02% 3,75mL, pH: 7,2.

Các môi trường đều được khử trùng ở 121 °C, 1 atm, trong 15 phút.

2.1.2. Phương pháp nghiên cứu

* Nghiên cứu tạo dịch chiết tía tô và nước uống từ dịch chiết tía tô

Mẫu lá được thu ở giai đoạn trưởng thành của cây, được rửa sạch bằng nước máy, để ráo nước. Lá được cân và phối trộn với nước theo tỉ lệ như trong Bảng 1 được đun ở 100°C trong thời gian 5 phút, thu dịch chiết và loại bỏ lá.

Bảng 1. Tỉ lệ tía tô và nước sử dụng để tạo dịch chiết tía tô

Tỉ lệ (kg/L)	1 : 2	1 : 3	1 : 4	1 : 5	1 : 6
Cây tía tô (kg)	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Nước (L)	0,6	0,9	1,2	1,5	1,8

Dịch chiết tía tô có tỉ lệ thích hợp (Bảng 1) được chọn và bổ sung sucrose được đun sôi nhẹ cho tan hết trước khi bổ sung acid citric. Lượng sucrose và acid citric sử dụng tạo nước uống từ dịch chiết tía tô theo tỉ lệ như trong Bảng 2.

Bảng 2. Tỉ lệ dịch chiết, sucrose và acid citric sử dụng để tạo nước uống từ dịch chiết tía tô

Dịch chiết (mL)	1000	1000	1000	1000	1000
Sucrose (g)	50	100	150	200	250
Acid citric (g)	1; 2; 3; 4; 5	1; 2; 3; 4; 5	1; 2; 3; 4; 5	1; 2; 3; 4; 5	1; 2; 3; 4; 5

Nước uống từ dịch chiết tía tô được đánh giá cảm quan (màu sắc, mùi hương, vị) để lựa chọn ra tỉ lệ phối hợp tốt nhất sử dụng cho nghiên cứu tiếp theo.

*** Phương pháp đánh giá cảm quan**

Đánh giá cảm quan nước uống từ dịch chiết tía tô theo TCVN7041:2009 đối với đồ uống không cồn, dựa vào 03 tiêu chí: (1) màu sắc, (2) mùi và (3) hương vị. Chấm theo thang điểm từ 0 - 5 theo mức độ đạt cho từng tiêu chí (Điểm 0: sản phẩm bị hỏng, không dùng được; điểm 1: sản phẩm có màu sắc và mùi vị không phù hợp, không có mùi vị đặc trưng của nước uống từ dịch chiết tía tô; điểm 2: sản phẩm đạt loại trung bình, chưa có mùi vị đặc trưng của nước uống từ dịch chiết tía tô; điểm 3: sản phẩm đạt loại khá, có mùi vị gần đặc trưng của nước uống từ dịch chiết tía tô; điểm 4: sản phẩm khá tốt, có mùi vị đặc trưng của nước uống từ dịch chiết tía tô; điểm 5: sản phẩm rất tốt, có mùi vị hoàn toàn đặc trưng của nước uống từ dịch chiết tía tô). Các phiếu đánh giá sẽ được tập hợp lại để xử lý thống kê cho từng tiêu chí và điểm tổng có trọng số.

Bảng 3. Bảng đánh giá cảm quan sản phẩm nước uống tía tô được tạo ra theo các công thức được lựa chọn trong Bảng 1 và 2

Các chỉ tiêu đánh giá cảm quan		Trọng số	Điểm đánh giá					
			0	1	2	3	4	5
Đánh giá chung về sản phẩm	Màu sắc	0,8						
	Mùi hương	1,2						
	Vị	2,0						

*** Xác định một số hoạt chất trong cây tía tô, dịch chiết và nước uống từ dịch chiết tía tô**

Hàm lượng phenol tổng số được xác định theo phương pháp của Waterhouse, 2002 [11]; đường khử trong tía tô được định lượng theo phương pháp DNS (dinitrosalicylic acid) [12]; hàm lượng flavonoid tổng số được định lượng theo phương pháp của Sapkota và cộng sự, 2010 [13]; hàm lượng anthocyanin tổng số trong tía tô được xác định theo phương pháp của Guisti và Wirolstad, 2001 [14]; hoạt tính chống oxy hoá DPPH trong lá, dịch chiết và nước uống từ dịch chiết tía tô được đánh giá theo phương pháp của Blois và cộng sự, 1958 [15].

*** Đánh giá khả năng ức chế một số vi sinh vật kiểm định của dịch chiết và nước uống từ dịch chiết tía tô**

Nguyên tắc dựa vào khả năng khuếch tán của các chất trên môi trường thạch. Vi sinh vật kiểm định gồm: *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus*, *Candida albicans*. Mẫu đối chứng: nước cất vô trùng, đối chứng (-); mẫu thí nghiệm: dịch chiết tía tô và nước uống từ dịch chiết tía tô.

*** Xác định chỉ tiêu vi sinh vật tổng số trong nước uống từ dịch chiết tía tô**

Nước uống từ dịch chiết lá tía tô thành phẩm được đóng chai kín và thanh/khử trùng ở hai điều kiện là 105 °C trong 10 phút và thanh trùng Pasteur 60 °C trong 15 phút, được bảo quản trong điều kiện mát (4 và 30 °C) trong 25 ngày. Vi khuẩn hiếu khí được xác định bằng kỹ thuật đếm khuẩn lạc (từ một lượng mẫu xác định của nước uống từ dịch chiết lá tía tô) trên môi trường thạch dinh dưỡng khi nuôi cấy ở nhiệt độ 30 °C trong 72 giờ. Chỉ tiêu coliform tổng số và coliform chịu nhiệt được định lượng bằng phương pháp MPN (Most Probable Number) [16].

2.2. Kết quả và thảo luận

2.2.1. Nghiên cứu chế tạo dịch chiết và nước uống từ dịch chiết tía tô

Kết quả nghiên cứu dịch chiết tía tô là tiền đề cho việc tạo nước uống từ dịch chiết tía tô. Kết quả trong Bảng 4 cho thấy trong các tỉ lệ phối hợp giữa tía tô và nước tỉ lệ 1:3 (300 g lá chiết trong 900 mL) cho sản phẩm dịch chiết có điểm cảm quan trên 2 tiêu chí màu sắc và mùi

hương cao nhất đạt $8,6 \pm 0,12$ theo thang điểm 10 có trọng số (0,8 với tiêu chí màu sắc và 1,2 với tiêu chí mùi hương). Dịch chiết có mùi thơm dịu đặc trưng của tía tô, có màu đỏ sẫm và trong.

Bảng 4. Kết quả đánh giá cảm quan dịch chiết tía tô

Tỉ lệ Lá : Nước (g) : (mL)	Đánh giá		Điểm cảm quan cho 02 tiêu chí
	Màu sắc	Mùi hương	
300: 600	Đỏ, đục	Mùi hương hơi nồng	$6,16 \pm 0,2$
300:900	Đỏ sẫm, trong	Mùi thơm dịu, đặc trưng	$8,6 \pm 0,12$
300:1200	Đỏ nhạt, trong	Mùi thoang thoảng	$7,76 \pm 0,08$
300:1500	Đỏ nhạt, trong	Không rõ mùi	$6,4 \pm 0,1$
300:1800	Hồng nhạt, trong	Không rõ mùi	$6,16 \pm 0,05$

Kết quả nghiên cứu bổ sung acid citric (Bảng 5) vào dịch chiết cho thấy tỉ lệ phối hợp giữa dịch và acid citric là 3g và 4g acid citric trong 1000mL dịch chiết cho sản phẩm có điểm cảm quan cao nhất đạt $9 \pm 0,02$ (3g) và $9 \pm 0,05$ theo thang điểm 10 có trọng số (0,8 với tiêu chí màu sắc và 1,2 với tiêu chí mùi hương). Dịch chiết có mùi thơm dịu đặc trưng của tía tô và màu đỏ hồng, hài hòa, tuy nhiên dịch chiết có vị chua hoặc chua gắt. Các sản phẩm nước uống hoa quả từ chanh ta (lemon juice), chanh tây (lime juice) trên thị trường thường có hàm lượng acid citric khoảng 0,03 - 0,22 g/oz tức là khoảng 1,06 - 7,76 g/L [17]. Do vậy, chúng tôi lựa chọn bổ sung 3 g acid citric để chế biến 1 lít dịch chiết tía tô thành nước uống tía tô.

Bảng 5. Đánh cảm quan dịch chiết tía tô có bổ sung acid citric

Tỉ lệ acid citric : dịch chiết (g) : (mL)	Đánh giá			Điểm cảm quan
	Màu sắc	Mùi hương	Vị	
1 : 1000	Màu đỏ sẫm, hơi xanh đen	Mùi thơm	Chua, nhạt, ngái	$7,8 \pm 0,2$
2 : 1000	Màu đỏ sẫm	Mùi thơm	Rất chua, ngái	$8,2 \pm 0,13$
3 : 1000	Màu đỏ hồng, hài hòa	Mùi thơm dịu	Rất chua	$9 \pm 0,02$
4 : 1000	Màu đỏ hồng, hơi sáng màu	Mùi thơm dịu	Chua gắt	$9 \pm 0,05$
5: 1000	Màu đỏ nhạt	Mùi thơm nhạt	Chua gắt	$8,6 \pm 0,17$

Kết quả nghiên cứu bổ sung sucrose vào dịch chiết tía tô đã bổ sung acid citric (Bảng 6) cho thấy tỉ lệ phối hợp giữa dịch chiết với acid citric và sucrose lần lượt là 3 g và 150 g trong 1000 mL dịch chiết, cho sản phẩm nước uống có điểm cảm quan cao nhất đạt $18,5 \pm 0,05$ theo thang điểm 20 có trọng số (0,8 với tiêu chí màu sắc và 1,2 với tiêu chí mùi hương và 2,0 với tiêu chí vị). Loại nước uống từ dịch chiết tía tô này có màu sắc hài hòa, mùi thơm đặc trưng của dịch chiết tía tô, có vị ngọt dịu.

Bảng 6. Đánh giá cảm quan nước uống từ dịch chiết tía tô

Tỉ lệ trong 1000 mL dịch chiết		Đánh giá			Điểm cảm quan cho cả 3 tiêu chí
<i>Acid citric</i> (g)	<i>Sucrose</i> (g)	<i>Màu sắc</i>	<i>Mùi hương</i>	<i>Vị</i>	
3	50	Hài hòa	Mùi thơm dịu	Nhạt, hơi chua	14,2 ± 0,1
	100	Hài hòa	Mùi thơm dịu	Hơi nhạt	15,3 ± 0,15
	150	Hài hòa	Mùi thơm dịu	Ngọt dịu	18,5 ± 0,05
	200	Hài hòa	Mùi thơm dịu	Ngọt	16,6 ± 0,1
	250	Hài hòa	Mùi thơm dịu	Quá ngọt	15,2 ± 0,2
4	50	Sáng màu	Mùi thơm dịu	Nhạt và chua	13 ± 0,15
	100	Sáng màu	Mùi thơm dịu	Nhạt vị	15,02 ± 0,17
	150	Sáng màu	Mùi thơm dịu	Ngọt, hơi chua	17,4 ± 0,1
	200	Sáng màu	Mùi thơm dịu	Ngọt	15,2 ± 0,05
	250	Sáng màu	Mùi thơm dịu	Quá ngọt	15 ± 0,01

Từ các kết quả nghiên cứu trên, chúng tôi quyết định sử dụng dịch chiết tía tô với tỉ lệ 1 tía tô : 3 nước (kg/L) có bổ sung acid citric 3 g/L và đường sucrose 150 g/L để chế tạo nước uống từ dịch chiết tía tô. So sánh với quy trình thu nhận dịch chiết từ tía tô có hàm lượng polyphenol cao nhằm ứng dụng sản xuất nước giải khát từ bột tía tô của Võ Văn Quốc Bảo và Nguyễn Vũ Bá Huy, 2019 [8], quy trình chiết của chúng tôi đã tối giản thành phần nguyên liệu (không sử dụng ethanol 80%) và phương pháp chiết dịch (không sấy khô lá, không dùng cơ quay chân không để thu cao chiết) nhưng vẫn đảm bảo mùi hương và vị đặc trưng của tía tô. Do vậy, giảm chi phí sản xuất, có tính ứng dụng cao và thân thiện với môi trường.

2.2.2. Đánh giá thành phần một số hoạt chất trong cây tía tô, dịch chiết và nước uống từ dịch chiết tía tô

Nguyên liệu đóng vai trò quan trọng quyết định đến chất lượng sản phẩm đồ uống. Thành phần một số hoạt chất có vòng phenol, flavonoid, anthocyanin và đường khử cùng với hoạt tính chống oxy hoá DPPH trong tía tô, dịch chiết và nước uống từ dịch chiết tía tô đã được phân tích. Kết quả được trình bày bảng 7.

Bảng 7. Một số hoạt chất trong cây tía tô tươi, dịch chiết và nước uống từ dịch chiết tía tô

Thành phần	Tía tô sấy khô (mg/g)	Dịch chiết tía tô (mg/mL)	Nước uống từ dịch chiết tía tô (mg/mL)
Các hợp chất phenol tổng số	8,36 ± 0,58	5,817 ± 0,172	4,737 ± 0,0135
Flavonoid	9,718 ± 0,036	5,443 ± 0,016	4,750 ± 0,0235
Đường khử	3,492 ± 0,008	1,994 ± 0,003	1,963 ± 0,014
Anthocyanin	0,6011 ± 0,002	Không xác định được	Không xác định được
Hoạt tính chống oxy hóa (DPPH)	119,27 ± 0,125	105,46 ± 0,02	103,92 ± 0,005

Kết quả Bảng 7 thể hiện hàm lượng các hợp chất phenol tổng số, flavonoid đường khử trong cây tía tô sấy khô đạt $8,36 \pm 0,58$; $9,718 \pm 0,036$; $3,492 \pm 0,008$ (mg/g) cao hơn so với hàm lượng những hoạt chất này trong dịch chiết ($5,817 \pm 0,172$; $5,443 \pm 0,016$; $1,994 \pm 0,003$ (mg/mL) và nước uống từ dịch chiết tía tô ($4,737 \pm 0,0135$; $4,750 \pm 0,0235$; $1,963 \pm 0,014$ (mg/mL). Lượng phenol được phân tích trong tía tô là $8,36 \pm 0,58$ mg/g cây khô tuyệt đối, cao hơn so với nghiên cứu của Li và Tang (2007) là 5,24mg/g [18]. Hàm lượng flavonoid là một trong những thông số để đánh giá hoạt tính chống oxy hóa, chống ung thư của của dịch chiết lá tía tô. Hàm lượng flavonoid mà chúng tôi phân tích được trong lá tía tô là 9,718mg/g lá khô tuyệt đối (Bảng 7) không nhiều như rau bina, hành tây đỏ, mướp đắng [18], nhưng cao hơn so với nghiên cứu của Hong và Kim (2010) là 7,23 mg/g [19]. Hàm lượng flavonoid trong dịch chiết và siro dịch chiết lá tía tô lần lượt là 5,443 mg/mL và 4,750 mg/mL. Sự chênh lệch hàm lượng các hoạt chất giữa dịch chiết và nước uống từ dịch chiết tía tô không đáng kể chứng tỏ quá trình chiết và bảo quản nước uống từ dịch chiết tía tô không làm mất nhiều các hoạt chất trên. Hàm lượng anthocyanin trong tía tô là khá thấp $0,6011 \pm 0,002$ (mg/g) và không xác định được trong dịch chiết và nước uống từ dịch chiết tía tô.

Hoạt tính chống oxy hóa của tía tô tươi, dịch chiết và nước uống từ dịch chiết tía tô đã được đánh giá thông qua hoạt tính quét gốc tự do của DPPH (Bảng 7). Giá trị IC_{50} (giá trị ức chế 50%) của tía tô tươi được sấy khô được tính toán và đạt 119,27mg/g, trong dịch chiết là 105,46 mg/mL và trong nước uống từ dịch chiết tía tô là 103,92 mg/mL. Kết quả trên cho thấy hoạt tính chống oxy hóa (DPPH) không bị mất đi nhiều bởi sự tác động của nhiệt độ. Giá trị IC_{50} trong tía tô tươi cao hơn so với nghiên cứu của Nguyễn Thị Ngọc Thúy và cộng sự (2018) là 101,053 mg/mL [20]. Hoạt tính chống oxy hóa của dịch tía tô đã được Jiang và cộng sự (2018) đánh giá thông qua khả năng quét gốc tự do của DPPH và dịch chiết tía tô 50% đã được ứng dụng trong bảo quản, chế biến rau bắp cải đỏ có hiệu quả [21].

2.2.3. Khả năng kháng một số vi sinh vật kiểm định của dịch chiết tía tô

Kết quả đánh giá khả năng ức chế một số vi sinh vật kiểm định của dịch chiết tía tô được thể hiện ở Bảng 8.

Bảng 8. Đánh giá khả năng ức chế VSV kiểm định của dịch chiết tía tô

Vi sinh vật kiểm định	Khả năng ức chế vi sinh vật kiểm định	
	Dịch chiết tía tô có bổ sung acid citric	Dịch chiết tía tô không bổ sung acid citric
<i>E. coli</i>	(-)	(-)
<i>Salmonella</i> sp.	(+) (D-d = 4mm)	(-)
<i>Bacillus cereus</i>	+ (D -d = 1mm)	(-)
<i>Micrococcus luteus</i>	(-)	(-)
<i>Candida albican</i>	(-)	(-)

Ghi chú: (+) là xuất hiện vòng vô khuẩn; (-) là không xuất hiện vòng vô khuẩn D là đường kính của vòng vô khuẩn; d là đường kính của khoan giấy thấm chứa dịch chiết tía tô

Một số nghiên cứu gần đây của Reddy và cộng sự (2021), Zhang và cộng sự (2021) cho thấy dịch chiết các bộ phận khác nhau của cây tía tô có hoạt tính kháng khuẩn cao với một số vi sinh vật kiểm định như *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* và *Bacillus subtilis* [22, 23]. Hoạt tính này được cho là do thành phần acid rosmarinic (RosA) trong cây tía tô [23], một hợp chất có vòng phenol. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu của chúng tôi trong bảng 8 cho thấy dịch chiết tía tô không có khả năng ức chế cả 5 vi sinh vật kiểm định được thử nghiệm. Kết quả khác biệt này so với các nghiên cứu trước đây của Reddy và cộng sự (2021), Zhang và cộng

sự (2021) có thể là do dịch chiết tía tô của chúng tôi được chiết trong nước nóng (100°C) trong 10 phút làm mất đi hoạt tính của RosA trong dịch chiết; trong khi các nghiên cứu khác lại chiết RosA từ lá tươi bằng các dung môi hữu cơ như methanol hoặc ethanol. Tuy nhiên, dịch chiết tía tô được bổ sung acid citric (trong nghiên cứu này) có khả năng ức chế rất yếu *Bacillus cereus* và vi khuẩn *Salmonella* sp.

2.2.4. Xác định tổng số vi sinh vật hiếu khí và coliform trong nước uống từ dịch chiết tía tô ở một số điều kiện thanh/khử trùng và bảo quản

Kết quả kiểm tra tổng số vi sinh vật hiếu khí trong nước uống từ dịch chiết tía tô cho thấy không xuất hiện bất kì khuẩn lạc vi sinh vật từ nước uống từ dịch chiết tía tô sau 25 ngày bảo quản ở nhiệt độ mát (4 và 30 °C). Theo Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN5165:1990, sản phẩm nước uống từ dịch chiết tía tô được đánh giá là có ít hơn 1 vi khuẩn hiếu khí trong 1 mL sản phẩm.

Kết quả định lượng coliform cũng cho thấy không xuất hiện sự sinh hơi và đổi màu trong các ống thí nghiệm chứa nước uống từ dịch chiết ở độ pha loãng sau thời gian 72 giờ thí nghiệm chứng tỏ nước uống từ dịch chiết tía tô sau 25 ngày bảo quản ở nhiệt độ mát (4 và 30 °C) không chứa coliform tổng số (theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 6187-1:1996).

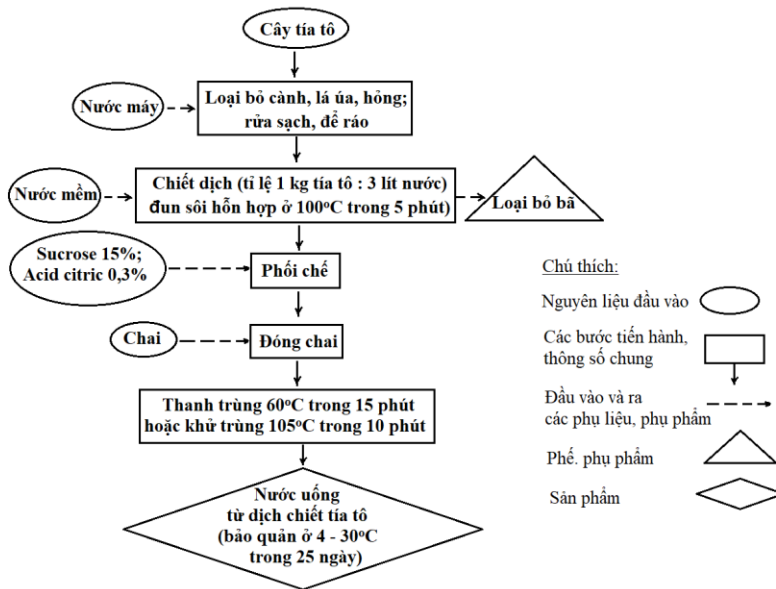
Bảng 9. Đánh giá phương pháp khử trùng và bảo quản nước uống từ dịch chiết lá tía tô

Thời gian (ngày)	Khử trùng (°C/phút)	Bảo quản (°C)	Màu sắc	Mùi hương	Vị	Tổng số vi khuẩn hiếu khí và coliform
5	60/15	4	Hài hòa	Thơm dịu	Ngọt dịu	(-)
		30	Hài hòa	Thơm dịu	Ngọt dịu	(-)
	105/10	4	Hài hòa	Thơm dịu	Ngọt dịu	(-)
		30	Hài hòa	Thơm dịu	Ngọt dịu	(-)
10	60/15	4	Hài hòa	Thơm dịu	Hơi ngọt	(-)
		30	Hài hòa	Thơm dịu	Ngọt dịu	(-)
	105/10	4	Hài hòa	Thơm dịu	Hơi ngọt	(-)
		30	Hài hòa	Thơm dịu	Ngọt dịu	(-)
15	60/15	4	Hài hòa	Thơm dịu	Hơi ngọt	(-)
		30	Hài hòa	Mùi thơm hơi nồng	Ngọt dịu	(-)
	105/10	4	Hài hòa	Thơm dịu	Hơi ngọt	(-)
		30	Hài hòa	Mùi thơm hơi nồng	Ngọt dịu	(-)
20	60/15	4	Hài hòa	Thơm dịu	Hơi ngọt	(-)
		30	Hài hòa	Mùi thơm hơi nồng	Ngọt dịu	(-)
	105/10	4	Hài hòa	Thơm dịu	Hơi ngọt	(-)
		30	Hài hòa	Mùi thơm hơi nồng	Ngọt dịu	(-)
25	60/15	4	Hài hòa	Thơm dịu	Hơi ngọt	(-)
		30	Hài hòa	Mùi thơm hơi nồng	Ngọt dịu	(-)
	105/10	4	Hài hòa	Thơm dịu	Hơi ngọt	(-)
		30	Hài hòa	Mùi thơm hơi nồng	Ngọt dịu	(-)

Các kết quả trên (Bảng 9) cũng cho thấy cả 2 phương pháp (thanh trùng Pasteur ở 60 °C trong 15 phút và khử trùng 105 °C trong 15 phút) đều đạt hiệu quả tiêu diệt vi sinh vật tốt sau 25 ngày bảo quản ở 4 và 30 °C. Kết quả đánh giá cảm quan cho thấy, từ ngày thứ 10, siro dịch chiết lá tía tô được bảo quản ở 4 °C cho cảm giác vị ngọt dịu hơn so với sản phẩm ban đầu và so với sản phẩm được bảo quản ở 30°C. Từ ngày thứ 15, siro dịch chiết lá tía tô được bảo quản ở nhiệt độ 30 °C được đánh giá có mùi thơm hơi nồng so với sản phẩm ban đầu và so với sản phẩm được bảo quản ở 4 °C. Kết quả này cũng cho thấy siro dịch chiết lá tía tô có thể tiếp tục bảo quản và sử dụng sau 25 ngày ở điều kiện 4 °C.

2.2.5. Đề xuất qui trình tạo nước uống từ dịch chiết tía tô

Từ các kết quả trên chúng tôi đã xây dựng qui trình tạo nước uống từ dịch chiết tía tô ở quy mô phòng thí nghiệm (5 - 10 kg tía tô/mẻ) như trong Hình 1.



Hình 1. Sơ đồ quy trình sản xuất nước uống từ dịch chiết lá tía tô quy mô phòng thí nghiệm

Thuyết minh quy trình:

- Sơ chế: Nguyên liệu đầu vào là cây tía tô trưởng thành, không bệnh, được loại bỏ rễ, cành, lá úa, hỏng; rửa sạch và để ráo.
- Chiết dịch: Nguyên liệu được cân và bổ sung nước theo tỉ lệ 1 tía tô : 3 nước (kg/L) và đun sôi ở 100 °C trong 5 phút để thu dịch chiết, loại bỏ lá.
- Phối chế: Dịch chiết lá tía tô được bổ sung sucrose với tỉ lệ 15% và acid citric với tỉ lệ 0,3%; khuấy trộn cho hòa tan hoàn toàn.
- Đóng chai và thanh/khử trùng: sản phẩm được đóng chai thủy tinh và thanh trùng Pasteur ở 60 °C trong 15 phút hoặc khử trùng ở 105 °C trong 10 phút.
- Bảo quản: Sản phẩm nước uống từ dịch chiết tía tô được bảo quản ở 4 -30°C trong 25 ngày.

3. Kết luận

Chúng tôi đã xây dựng được quy trình tạo nước uống từ dịch chiết tía tô nhằm tạo sản phẩm đồ uống đáp ứng yêu cầu về vệ sinh an toàn và chất lượng. Tỉ lệ phối hợp gồm 1 lá : 3 nước (kg/L), bổ sung 15% đường và 0,3% acid citric là phù hợp tạo nước uống từ dịch chiết tía tô có điểm cảm quan đạt $18,5 \pm 0,05$. Hàm lượng các chất như phenol, flavonoid, đường khử

trong nước uống từ dịch chiết tía tô đạt lần lượt $4,737 \pm 0,0135$; $4,750 \pm 0,0235$; $1,963 \pm 0,014$ (mg/mL). Kết quả đánh giá chỉ tiêu tổng số vi sinh vật, *coliform* tổng số và *coliform* chịu nhiệt trong nước uống đã thanh/khử trùng sau 25 ngày bảo quản ở 4 và 30°C cho thấy sản phẩm nước uống từ dịch chiết tía tô đáp ứng yêu cầu vệ sinh an toàn thực phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Ahmed H. M., 2019. Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological investigations of *Perilla frutescens* (L.) Britton. *Molecules*, 24 (102), pp. 1-23.
- [2] Nguyễn Thị Hoàng Lan, Bùi Quang Thuật, Lê Danh Tuyên and Nguyễn Thị Ngọc Duyên, 2015. Khả năng kháng khuẩn từ tinh dầu lá tía tô. *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, 13 (2), tr. 245-250.
- [3] Baba K, Ishikawa T and Takei T., 2008. *Method of preparing Perilla frutescens var. crispa f. purpurea syrup*. EU patent EP2116138A4.
- [4] Baba K, Ishikawa T and Takei T., 2012. *Method for preparing syrup from red shiso*. US patent US8304007B2.
- [5] Ren W., Bai W.D., Huang G.Y. and Mai M.Q., 2009. *Research on the development of Perilla frutescens green plum fruit wine*. *Liquor-Making Science & Technology*, 10.
- [6] Ren W., Wang W. and Huang M, 2010. *Research and development of Perilla frutescens-Hami cantaloupe wine*, *China Brewing*, 11, 66.
- [7] Lê Văn Hạc, 1995. *Nghiên cứu thành phần hoá học của một số cây thuộc họ Hoa môi (Labiatae) và họ Rau răm (Polygonaceae) ở Việt Nam*. Luận án Phó Tiến sĩ Khoa học Hoá học, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội, tr. 125.
- [8] Võ Văn Quốc Bảo và Nguyễn Vũ Bá Huy, 2019. Ảnh hưởng của một số yếu tố kỹ thuật đến công thức phối chế nước giải khát giàu polyphenol từ dịch chiết lá tía tô. *Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Kỹ thuật và Công nghệ*, 128(2A), tr. 29-41.
- [9] Trần Hoàng Quyên, 2010. *Nghiên cứu công nghệ sản xuất chế phẩm dịch chiết lá tía tô giàu axit rosmarinic để ứng dụng trong sản xuất đồ uống chức năng*. Đề tài nghiên cứu cấp Viện Công nghiệp Thực phẩm, <http://firi.vn/khoi-nghien-cuu/trung-tam-thuc-nghiem-san-xuat-va-chuyen-giao-cong-nghe>.
- [10] Cấn Thị Nga, Trần Thị Thúy, Phan Duệ Thanh, 2020. *Phân lập và tuyển chọn nấm men lên men có khả năng lên men dịch chiết lá tía tô Perilla frutescens* (L. Britton). *Kỷ yếu Hội nghị Quốc gia về nghiên cứu và giảng dạy sinh học ở Việt Nam lần thứ 4*, tr. 848-855.
- [11] Waterhouse A.L., 2002. *Determination of total phenolics*, In: *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, New York: John Wiley & Sons Inc. F11.1.1 - I1.1.8.
- [12] Miller G.L., 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31 (3), pp.426-428.
- [13] Sapkota K., Park S.E., Kim S.J., Kim S., Choi H.S., Chun H.S., Kim S.J., 2010. Antioxidant and antimelanogenic properties of chestnut flower extract. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 74, pp. 1527-1533.
- [14] Giusti M.M. and Wrolstad R.E., 2001. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-Visible spectroscopy. In *Current protocols in Food Analytical Chemistry*. New York: John Wiley & Sons Inc., F1.2.1-F1.2.13.
- [15] Blois M.S., 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, pp. 1199-1200.
- [16] Trần Linh Thuộc; 2007. *Phương pháp phân tích vi sinh vật trong nước, thực phẩm và mỹ phẩm*. Nhà Xuất bản Giáo dục, 232 tr.

- [17] Penniston K.L., Nakada S.Y., Holmes R.P. and Assimos D.G., 2008. Quantitative assessment of citric acid in lemon juice, lime juice, and commercially-available fruit juice products. *Journal of endourology*, 22(3), pp. 567-570. <https://doi.org/10.1089/end.2007.0304>.
- [18] Lin J.Y. and Tang C.Y., 2007. Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation. *Food Chemistry*, 101 (1), pp. 140-147.
- [19] Hong E. and Kim G.H., 2010. Comparison of extraction conditions for phenolic, flavonoid content and determination of rosmarinic acid from *Perilla frutescens* var. *Acuta*. *International Journal of Food Science and Technology*, 45, pp. 1353-1359.
- [20] Jiang A., Gua S., Zhoua F., et al., 2018. Effect of the extraction of *Perilla frutescens* treatment on quality of fresh-cut red cabbage (*Brassica oleracea*). *MOJ Food Process Technology*, 6(3), pp. 258-262. DOI: 10.15406/mojfpt.2018.06.00173.
- [21] Nguyễn Thị Ngọc Thúy, Nguyễn Thị Thu Huyền, Trương Quang Duy, Phan Quỳnh Thúy Nga, Cao Thị Cẩm Tú, 2018. Ảnh hưởng của dung môi và pH đến quá trình trích ly các hợp chất có khả năng kháng oxy hóa từ tía tô (*Perilla frutescens*). *Tạp chí Khoa học Công nghệ và Thực phẩm*, 14 (1), tr. 66-74.
- [22] Reddy N.V., Li H., Hou T., Bethu M.S., Ren Z., Zhang Z., 2021. Phytosynthesis of Silver Nanoparticles Using *Perilla frutescens* Leaf Extract: Characterization and Evaluation of Antibacterial, Antioxidant, and Anticancer Activities. *Int. J. Nanomedicine* 16, pp. 15-29.
- [23] Zhang J., Cui X., Zhang M., Bai B., Yang Y., Fan S., 2021. The antibacterial mechanism of perilla rosmarinic acid. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, <https://doi.org/10.1002/bab.2248>.

ABSTRACT

Study on the process of preparing perilla drinks from *Perilla frutescens* (L.) Britton

Nguyen Thi Thu Ha, Phan Due Thanh, Tong Thi Mo and Tran Thi Thuy*
Faculty of Biology, Hanoi National University of Education

Perilla frutescens (L.) Britton is well known as a herb and medicinal plant in Vietnam and some East Asian countries. Perilla drinks is a favorite product in Japan. In Vietnam, researches on processing perilla into beverage and juice are quite limited. In this study, we built a process to prepare a quality perilla drinks to meet the requirements of food safety and hygiene. A suitable ratio of perilla and water for preparing perilla extract was 1 : 3 (kg/L). The perilla juice prepared from this extract by supplementation of 15% sucrose and 0.3% citric acid had good sensory score of 18.5 ± 0.05 . The content of some active substances such as total phenolic compounds, flavonoid, reducing sugar of the perilla extract reached 5.817 ± 0.172 ; 5.443 ± 0.016 ; 1.994 ± 0.003 (mg/mL) respectively and had almost no significantly difference than that of the perilla drinks prepare from this extract (4.737 ± 0.0135 ; 4.750 ± 0.0235 ; 1.963 ± 0.014 (mg/mL). The content of anthocyanin in dry mass of *Perilla frutescens* (L.) Britton was 0.6011 ± 0.002 (mg/g) but it was not detected in the perilla extract and drinks. Antioxidant activity of perilla extract and drinks determined by IC₅₀ on DPPH were 105,46 and 103,92 mg/mL respectively. Results of counting total aerobic microbes and *coliform* showed that a sterilized/pasteurized perilla drinks met the requirements of food safety and hygiene in 25 days stored at 4 - 30 °C.

Keywords: anthocyanin, flavonoid, perilla drinks, *Perilla frutescens* (L.) Britton, phenolic compounds.